Über 3-Halogenverbindungen und 3-Glucoside der Keimdrüsenhormone

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

genehmigt von der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Friedrich-Wilhelm-Universität zu Berlin.

von

Wilhelm Grosse

aus Ludwigshafen am Rhein.

Tag der Promotion: 9. November 1938.
Tag der mündlichen Prüfung: 22. Juni 1938.

Buch- und Kunstdruckerei Wilh. Postberg, Bottrop i.W.

1938

N 73

Referenten: Professor Dr. Butenandt.

Professor Dr. Leuchs.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Professor Dr. A. Butenandt Ende April 1936 im Organisch-Chemischen Institut der Technischen Hochschule Danzig begonnen und im Februar 1938 am Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem zu Ende geführt.

Herrn Professor Dr. Butenandt habe ich sehr herzlich zu danken für die vielseitige Förderung meiner Arbeit durch Ratschläge, Anregungen und sein stetes Interesse.

Für die Ausführung der physiologischen Prüfungen bin ich Fräulein v. Dresler und Fräulein Meinerts zu Dank verpflichtet; ebenso spreche ich der Schering-A.G., Berlin, für die Überlassung wertvoller Materialien meinen verbindlichen Dank aus.

Einleitung.

Die sekundäre Hydroxyl-Gruppe am Kohlenstoffatom 3 der Cyclo-pentano-perhydrophenanthren-Abkömmlinge (Steroide) ist Ausgangspunkt für die Darstellung von Derivaten, die sowohl in chemischer als auch in physiologischer Hinsicht wichtig sind. Bei den männlich wirksamen Keimdrüsenhormonen ist der C_3-Substituent seiner sterischen Lage wie seinem funktionellen Charakter nach für die physiologische Wirksamkeit von erheblicher Bedeutung und steht an Wichtigkeit neben den Gruppierungen am C_5 und C_{17} (I).

Diese Arbeit beschäftigte sich zunächst mit dem Ersatz der 3-ständigen Hydroxyl-Gruppe durch Halogen. Die bisher dargestellten 3-Halogenide der Sexualhormone (2; 3; 15) haben sich, soweit bisher untersucht, als völlig, oder doch fast völlig, unwirksam erwiesen. Dies ist ein Beweis dafür, daß der Organismus nicht imstande ist, das Halogen gegen eine aktive Gruppe auszutauschen, und daß gerade Eingriffe an dieser Stelle eine entscheidende biologische Bedeutung haben können. Wenn also die 3-Chloride als solche physiologisch kaum interessieren, so erregen sie rein chemisch betrachtet wegen der relativ leichten Beweglichkeit des Halogens Interesse. Es können so wiederum auch Substanzen, die im Bereich der physiologischen Spezifitäts-Untersuchungen bedeutsam sind, gewonnen werden. Konfigurationsänderung durch Waldensche Umkehrung kann durch Auswahl von geeigneten Reagenzien beim gegenseitigen Austausch von Chlor und Hydroxyl-Gruppe erzielt werden (3; 4). Über die Grignard-Verbindungen und ihre nachfolgende Oxydation und Hydrolyse tritt Racemisierung und damit teilweise auch Epimerisierung ein (5, 6, 7). Auch sonst sind über die Grignard-Verbindungen Synthesen möglich, z. B. Carboxylierungen und andere C-C-Kondensationen.

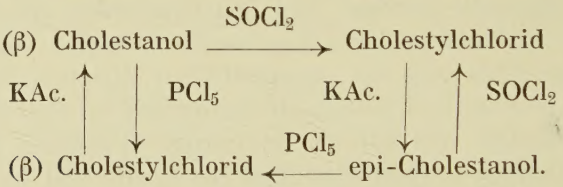
Der erste Teil dieser Arbeit beschreibt eine Darstellungsmethode für 3-Chloride Δ^5-ungesättigter Steroide. Bei der Ausarbeitung dieser Halogenierungsmethode erwies es sich als notwendig, einige Äther und Ester von Sexualhormonen, die bis dahin unbekannt waren, zu untersuchen. Es handelt sich um 3-Methyläther und 3-p-Toluolsulfonsäure-ester, von denen noch ausführlicher die Rede sein wird.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde die Synthese von Halb-Acetalen an der C_3-Hydroxyl-Gruppe der Sexualhormone, wie sie in ihren Glucosiden vorliegen, ausgeführt. Versuche zur Darstellung von Sterin- und Gallensäure-Glukosiden waren von Lettré und Hagedorn (28, ältere Literatur siehe dort) einerseits und von Dane und Brady (29) andererseits von physiologischen Gesichtspunkten aus, die in diesem Zusammenhang nicht interessieren, angestellt worden. Bei den Glucosiden der Sexualhormone wurde Wasserlöslichkeit vermutet; es schien von Interesse, die mit der Änderung der physikalischen Eigenschaften einhergehende Änderung der biologisch-chemischen zu untersuchen. Es wurde gefunden, daß bei den einfachen Glucosiden keine gute Wasserlöslichkeit besteht, daß aber die Löslichkeit im Vergleich zu dem betreffenden Aglucon deutlich von der Äther- zur Alkohol-Wasserseite verschoben ist.

Hauptteil.

I. Über Chlorierungsversuche am Cholesterin und am Dehydroandrosteron.

Bei Beginn dieser Arbeit waren die 3-Chloride der gesättigten Sterine schon recht gut bekannt. Marker, Whitmore und Kamm (4) hatten Cholestanol, epi-Cholestanol und die entsprechenden Chloride in folgende Beziehung gebracht:



Butenandt und Dannenbaum (1) hatten zum ersten Mal aus einem bei der Aufarbeitung von Männerharn unter dem Einfluß von Salzsäure anfallenden, ungesättigten Chlorketon $C_{19}H_{27}OCl$ durch katalytische Hydrierung 3-Chlorandrosteron und hieraus durch Behandeln mit Kaliumacetat Androsteron gewonnen. Dieses Chlorandrosteron und sein Epimeres wurden von Ruzicka, Wirz und Meyer (2) aus den entsprechenden Cholestylchloriden hergestellt. R. E. Marker und Mitarb. (3) brachten folgende Beziehung:

Isoandrosteron $\xrightarrow{SOCl_2}$ Chlorandrosteron $\xrightarrow{K\text{-Acetat}}$ Androsteron.

Aus diesen Reaktionen geht mit großer Wahrscheinlichkeit hervor, daß Waldensche Umkehrungen bei gesättigten Steroiden jeweils beim Behandeln eines Chlorids mit Kaliumacetat und beim Behandeln eines Alkohols mit PCl_5 eintreten, nicht aber beim Behandeln eines Alkohols mit Thionylchlorid.

Nicht so einfach lagen dagegen die Verhältnisse beim 5, 6 ungesättigten Dehydroandrosteron. Bei ihm ist genau wie beim Cholesterin, wo dasselbe Cholesterylchlorid sowohl mit PCl_5 als auch mit $SOCl_2$ entsteht, nur ein Chlorid bekannt, und zwar das oben erwähnte von Butenandt und Dannenbaum aufgefundene, ungesättigte Chlorketon, das zudem synthetisch schlecht zugänglich war. Es war von den genannten Autoren aus Dehydro-androsteron bereitet worden, um die Möglichkeit seiner Entstehung bei der Aufarbeitung von Männerharn zu beweisen; aber nur mit mäßiger Ausbeute. Ebenso hatten Marker und Mitarb. (3) aus Dibrom-cholesterinchlorid analog dem von Schoeller, Serini und Gehrke für das entsprechende Acetat angegebenen Verfahren (10, 11) durch Abbau der Seitenkette Dehydroandrosterylchlorid mit einer Ausbeute von 1—2 % (als Semicarbazon) gewonnen. Diese Verfahren wurden zu Beginn meiner Versuche nachgearbeitet, ohne daß bessere Ausbeuten erzielt werden konnten.

Über C_3-isomere (‚epi') Chloride vom Cholesterin oder Dehydroandrosteron lagen überhaupt keine Angaben vor; das epi-Cholesterin (7) wurde gerade zu Beginn und das epi-Dehydroandrosteron (12) nach Ausführung meiner Chlorierungsversuche bekannt.

Es wurde zunächst ein Versuch angestellt, durch Absättigung der — offenbar eine Umkehrung verhindernden — Doppelbindung des Cholesterins durch Bromanlagerung und nachfolgende Anwendung von verschiedenen Chlorierungsmitteln epimere 3-Chloride des Dibromcholesterins zu erhalten; es ließen sich aber auf diese Weise keine Dibrom-cholesterinchloride herstellen, offenbar überwiegen die Nebenreaktionen zu sehr. Dibromcholesterin vom Schmp. 123° wurde mit Thionylchlorid bzw. mit Phosphorpentachlorid behandelt. Aus dem Ansatz mit PCl_5 wurde nur etwas Ausgangsmaterial zurückgewonnen, sonst entstand als Reaktionsprodukt ein kaum zu entwirrendes Gemisch. Aus dem Ansatz mit Thionylchlorid wurde zwar chlorhaltiges Material isoliert, nach dem Behandeln mit Zinkstaub und Eisessig zeigte sich aber, daß die OH-Gruppe vorwiegend intakt geblieben war. Das gewöhnliche Dibrom-cholesterinchlorid läßt sich bequem auf dem

umgekehrten Wege, nämlich der Bromierung von Cholesterylchlorid herstellen. Übrigens gelang es auch R. E. Marker und Mitarb. nicht, durch Bromierung von epi-Cholesterinacetat zu einem Dibromderivat des epi-Cholesterins zu gelangen, sondern sie erhielten ein Tetrabrom-cholestan (13).

Über eine einfache Methode zur Darstellung von Dehydroandrosterylchlorid und analog gebauten Chloriden des Pregnenolons und Androstendiols.

Während der Durchführung dieser Versuche wurde eine Arbeit bekannt, in der Beynon, Heilbron und Spring (14) aus Anlaß von Versuchen zur Darstellung von epi-Cholesterin eine Methodik zur Darstellung von Cholesterylchlorid angaben, die in ihren ersten beiden Phasen einer Arbeit von W. Stoll (16) folgte, und die geeignet schien, mit Aussicht auf gute Ausbeuten auf das Dehydroandrosteron übertragen zu werden. Diese Methode läßt sich kurz folgendermaßen beschreiben:

Cholesterin (VIa) $\xrightarrow{\text{p-Toluolsulfochlorid}}$ Cholesterin-tosylester

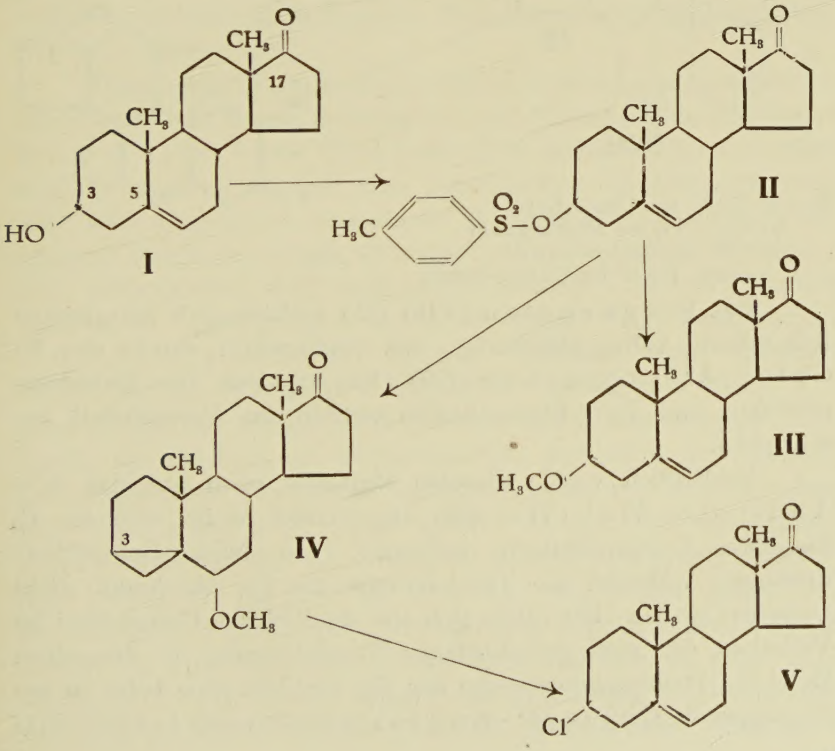
(VIIa) $\xrightarrow[\text{K-Acetat-Methanol}]{}$ isomerer, reaktionsfähiger Cholesterin-

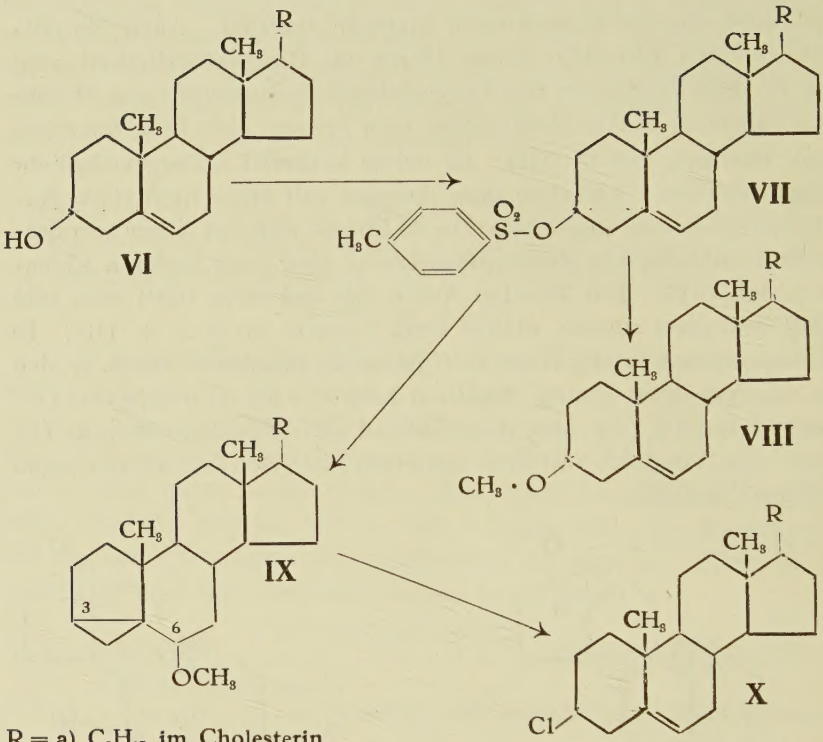
methyl-äther (IXa) $\xrightarrow{\text{HCl}}$ Cholesterylchlorid (Xa).

Tatsächlich zeigte es sich, daß diese Methodik mit Erfolg auf das Dehydroandrosteron angewandt werden konnte. Die im Versuchsteil angegebene Reinausbeute von 56 % über alle drei Stufen hinweg stellt das Mittel von mehreren Ansätzen dar und und ließe sich sicher noch verbessern, da sich jede Stufe fast quantitativ durchführen läßt.

Reines Dehydroandrosteron (I) wurde mit Tosylchlorid verestert. Das Tosyl-dehydroandrosteron (II) schmilzt bei 157—158° und zeigt eine Drehung von $[\alpha]_{20}^{D}$: — 12,1°. Es wird beim Stehen mit Alkohol in der Kälte langsam, in der Wärme sehr rasch zersetzt. Besitzen die gewöhnlichen Tosylester gegenüber anderen Estern schon eine erhöhte Reaktionsfähigkeit (16, 17), so ist dies in noch verstärktem Maße bei den 3-To-

sylestern der 5,6-ungesättigten Steroide der Fall. Auch die entsprechenden Chloride stehen ihnen an Reaktionsfähigkeit weit nach. Ein Verkochen des Tosyl-dehydroandrosterons mit Methanol führte zu einem Methyläther vom Schmp. 140—142° und einer opt. Drehung von 0° (III). Er zeigte keinerlei außergewöhnliche Eigenschaften. Versetzte man dagegen mit einer methylalk. Kaliumacetatlösung und erwärmte, so bildete sich ein Äther von derselben analytischen Zusammensetzung, aber ganz anderen Eigenschaften (IV). Der flüssige Äther, der bei etwa 0,001 mm und 100° destilliert wurde, drehte stark positiv: $[\alpha]_D^{23} = +\ 110°$. In Eisessiglösung in der Kälte mit Salzsäure behandelt, setzte er sich in überraschend glatter Reaktion zum Dehydroandrosterylchlorid (V), also dem Chlorid des Ausgangs-Steroids (I), um. Ein Vergleich mit dem aus Harn isolierten Chlorketon ergab völlige Identität.





R = a) C_8H_{17} im Cholesterin
b) $CO \cdot CH_3$ im Pregnenolon
c) OH im Androstenchtol
(bzw. Tosyl- im 17-Tosylester)

Das Pregnenolon (VIb) (25) verhielt sich bei gleicher Behandlung völlig gleichartig. Als Endprodukt wurde das 3-Chlor-Δ^5-pregnenon-(20) (Xb) erhalten. Die Zwischenprodukte und ihre Eigenschaften werden im Versuchsteil beschrieben.

Schließlich wurde dieselbe Methodik noch auf das Δ^5-Androstendiol (VIc) (26) angewendet, wobei sich am C_3 dieselben Umwandlungen vollzogen, wie beim Dehydroandrosteron, während die Tosyl-Gruppe am C_{17} überhaupt nicht verändert wurde. Hier zeigte sich also deutlich der Unterschied im Verhalten der zwei verschiedenen Tosyl-Gruppen in demselben Molekül. Hydrolysenversuche der C_{17}-Tosyl-Gruppe beim so gewonnenen 3-Chlor-Δ^5-Androstenol-tosylester-(17)

(Xc) unter relativ energischen Bedingungen waren ohne Erfolg. Ebenso erwies sich der Ester als beständig gegen Versuche, die p-Toluolsulfonsäure durch mehrstündiges Kochen mit Pyridin abzuspalten; erst bei der Sublimation in einem Vakuum von etwa ½ mm bei einer Temperatur von etwa 120° trat Abspaltung ein. Das sublimierte Produkt ließ sich jedoch schwierig rein herstellen. Es wäre möglich, daß bei dem relativ schlechten Vakuum auch das Halogen am C_3 zum Teil angegriffen wird und so kein einheitliches Produkt entsteht. Aus diesem Grunde erscheint es vorteilhafter, die Abspaltungsreaktion mit dem auch bequemer zugänglichen 17-Tosylester des Testosterons auszuführen.

Über die ‚i'-Methyläther von Steroiden.

Für den normalen Cholesterin-methyläther (VIIIa) hat W. Stoll bei Bekanntgabe seiner neuen Methylierungs-Methode (16) nachgewiesen, daß er identisch ist mit dem nach den üblichen Methylierungs-Methoden darstellbaren gewöhnlichen ‚n'-Methyläther.

Dagegen steht trotz verschiedener Arbeiten die Konstitution des zweiten, unter Verwendung von Kaliumacetat hergestellten, Methyläthers (IXa) heute noch nicht fest. Stoll nahm zunächst an, daß bei ihm eine Verschiebung der Doppelbindung oder wahrscheinlicher eine durch Waldensche Umkehrung verursachte Epimerie vorläge. Wagner-Jauregg und Werner (18) beobachteten, daß auch aus Cholesteryl-Chlorid unter energischen Bedingungen in Anwesenheit von Kaliumacetat i-Cholesterin-methyläther gebildet wird; zweitens stellten sie fest, daß in Anwesenheit der äquivalenten Menge HCl beim Kochen mit Methanol der i-Aether sich in den normalen umlagert. Sie machten so wahrscheinlich, daß auch der normale Aether erst über den primär gebildeten isomeren entsteht, wenn freie Säure zugegen ist. Auch stellten sie fest, daß sich an den neuen i-Aether auffallend schwer Wasserstoff katalytisch anlagern läßt. Beynon, Heilbron und Spring zeigten später (14, 19), daß eine Doppelbindung zwischen C_4 und C_5 nicht in Frage kommt, da eine Farbreaktion mit Antimontrichlorid nicht auftritt, und da die nergische katalytische Hydrierung zur Cholestan-, und nicht zur Koprostanreihe, führt. Sie nahmen daher einen ‚epi'-

Aether an, und ich habe in Uebereinstimmung damit zunächst die isomeren Methyläther als ‚epi-Verbindungen' bezeichnet. In einer zweiten Veröffentlichung (20) sprach Stoll kurz darauf die beiden Aether als Epimere oder Strukturisomere an. Ruzicka, Goldberg und Bosshard (21) hielten dagegen auf Grund einer Gegenüberstellung von Drehwerten der bisher bekannten normalen und ‚epi'-Steroide eine Lage der Doppelbindung zwischen C_4 und C_5 bei dem neuen Methyläther des Dehydroandrosterons für wahrscheinlich. (Allocholesterin hat die Drehung $[\alpha]_D$: + 44°, Epiallocholesterin $[\alpha]_D$: + 120°.)

Einen wichtigen Beitrag lieferten schließlich Wallis, Fernholz und Gebhart (22), die das i-Cholesterin selbst aus dem Tosylester über das Acetat rein darstellten und zeigten, daß es weder mit Cholesterin oder Allocholesterin, noch mit einem der entsprechenden Epimeren identisch ist. F. G. Ford und Wallis (23) schlossen die Beweiskette, indem sie den i-Methyläther durch Behandeln von i-Cholesterin mit Methyljodid und zum Vergleich damit den von ihm verschiedenen Epimethyläther aus Epi-cholesterin (7) synthetisierten. Da das i-Cholesterin auf Doppelbindungsreagenzien, wie Brom, Benzopersäure oder Ozon nicht anspricht, entwarfen die genannten Autoren als vorläufige Strukturformel für die i-Verbindungen ein durch innermolekulare Umlagerung entstandenes pentacyclisches Ringsystem mit der Formulierung (IXa). Aehnliche Umlagerungen sind in der Terpenchemie, z. B. beim Thujon, bekannt. Da sie nach der Oxydation mit Chromsäure zu 20 % ein Keton als Oxim fassen konnten, hielten sie eine sekundäre, nicht tertiäre OH-Funktion für bewiesen und vermuteten eine Wanderung der Hydroxyl-Gruppe in die 6-Stellung.

Auch Beynon, Heilbron und Spring nehmen jetzt einen Cyclopropanring zwischen C_3, C_4 und C_5 an (24), geben aber der OH-Gruppe auf Grund einer kristallographischen Untersuchung die Stellung am C_3.

Eine endgültige Entscheidung über die Struktur der sog. i-Verbindungen steht also noch aus.

Anmerkung: Nach Abschluß dieser Arbeit gaben Ford, Wallis u. Mitarb. einen stichhaltigen Beweis für ihre Formulierung IXa (32).

II. Keimdrüsenhormon-Glucoside.

Zu einem Versuch einer Synthese von Glucosiden der Sexualhormone führten verschiedene Ueberlegungen. Es ist bekannt, daß Hormone an Glucuronsäure gebunden im Körper vorkommen, bzw. so aus ihm ausgeschieden werden. Es bleibt zunächst offen, ob die Keimdrüsenhormonglucuronide, also die Oxydationsprodukte der Glucoside, tatsächlich durch Paarung der betr. Hormone mit Glucuronsäure oder erst durch nachträgliche Oxydation von Glucosiden entstanden sind. Das Oestriol-Glucuronid z. B. wurde von Cohen und Marrian (8, 9) im Harn aufgefunden. Es scheint sich dabei um eine ausgesprochene Ausscheidungsform zu handeln, wie auch aus Analogie zu anderen im Harn ausgeschiedenen Glucuroniden anzunehmen ist. Nach der Glucosid-Synthese eine solche von Glucuroniden in Angriff zu nehmen, bleibt einem künftigen Versuch vorbehalten.

Noch in einem anderen Zusammenhang scheinen die Glucoside von Bedeutung sein zu können. Es steht bei manchen Wirkstoffen fest, daß sie erst in Verbindung mit einem anderen, an sich inaktiven, Stoff zur vollen Wirksamkeit gelangen. In Frage kommen Bindungen an Eiweiß oder Veresterungen mit bestimmten Säuren. Vielleicht haben gewisse Unterschiede in der Wirksamkeit von Organextrakten und von chemisch reinen, kristallisierten Hormonen hierin ihre Ursache. Auch die Glucoside sollten in diesem Zusammenhang untersucht werden.

Bei der Synthese konnten die Erfahrungen von Lettré und Hagedorn (28) bzw. von Dane und Brady (29) teilweise verwertet werden. Im übrigen wurde auf die eingehenden Untersuchungen von G. Zemplén (30) und von Emil Fischer zurückgegriffen.

Die besten Ergebnisse wurden nach der Methode von Zemplén erzielt. Dehydroandrosteron wurde mit Acetobromglucose in Benzollösung unter dem Einfluß von Quecksilberacetat einige Stunden zum Sieden erhitzt. Das hierbei entstandene Tetra-acetylglucosid wurde entweder mit Natriummethylatlösung oder mit methylalkohol. Ammoniak zur Abspaltung der Acetylgruppen behandelt. Zur völligen Rei-

nigung erwies es sich als vorteilhaft, das so gewonnene freie Glucosid nochmals zu acetylieren und wiederum zu verseifen, da es allein durch Umkristallisieren nicht leicht von Beimengungen zu befreien ist.

Das Dehydroandrosteron-tetraacetyl-glucosid (XI) läßt sich durch Umkristallisieren leicht völlig rein darstellen, wie aus dem Analysen-Resultat hervorgeht. Es schmilzt bei 180—181°. Die Wirksamkeit lag weit unter der des freien Dehydroandrosterons. Während dieses im ‚Fußgänger-Test', also an 5 Tagen hintereinander in Sesamöl-Lösung auf den Kapaunenkamm aufgetragen, mit 5×6 γ am 7. Tag ein Flächenwachstum von 30 %, das als Einheit festgesetzt ist, hervorruft, verursachte das Tetraacetat mit 5×5 γ nach derselben Technik ein Flächenwachstum von 0 %, und mit 5×10 γ von nur 2 %. Im Allen-Doisy-Test an der kastrierten weiblichen Maus war die Substanz mit 4×750 γ = 3 mg völlig unwirksam.

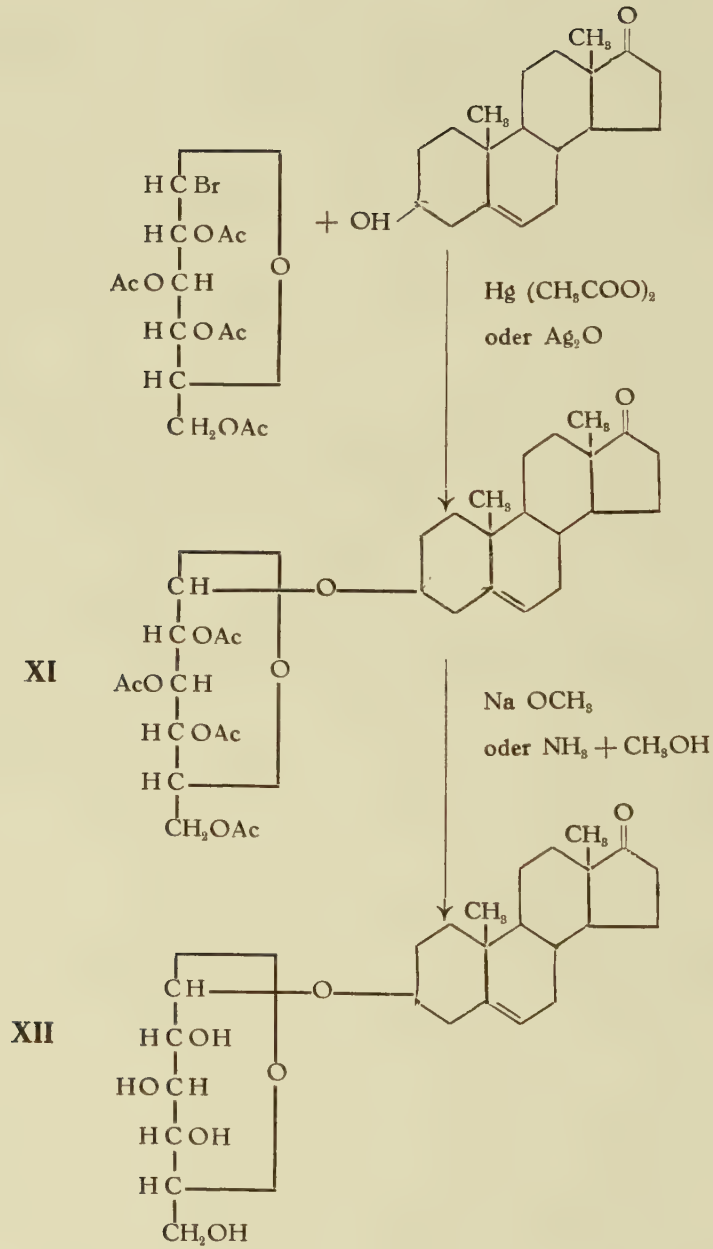
Das freie Dehydro-androsteron-glucosid (XII) schmilzt bei 217—218° und hat eine opt. Drehung von $[\alpha]_{20}^{D}$: — 15,2° bzw. —15,6°. Es ist in kaltem reinem Wasser schwer löslich, bei Zusatz von Alkohol steigt aber die Löslichkeit an. Bei der physiologischen Prüfung rief im Fußgänger-Test die Substanz mit 5×10 γ ein Flächenwachstum von 27 %, also beinahe der Einheit, hervor; die Prüfung im Vesikulardrüsen-Test an der infantilen Ratte lieferte dagegen mit einer Dosis von 8×4,5 mg kein eindeutiges Resultat, da sich so große Mengen Dehydroandrosteron-glucosid nicht in der üblichen Menge Sesamöl lösen und deshalb auch nicht einwandfrei injiziert werden können. Immerhin besaß die Substanz auch in diesem Test eine Wirksamkeit, die der des Dehydroandrosterons fast gleich kam. Im Allen-Doisy-Test rief die Substanz mit einer Dosis von 4×1,1 mg = 4,4 mg bei 5 von 8 Tieren Vollbrunst hervor; 62,5 % der Tiere zeigten also positive Wirkung, während von der Einheit (beim Dehydroandrosteron 4×0,75 mg) 75—80 % positive Reaktion verlangt wird.

Es wurde auch ein Versuch unternommen, das Dehydroandrosteronglucosid durch achtstündiges Kochen von Dehydroandrosteron und Acetobromglucose in Aetherlösung

mit Silberoxyd darzustellen. Das auf diese Weise gewonnene Dehydroandrosteron-glucosid schmolz bei 220—228°. Durch Umkristallisieren und durch nochmaliges Acetylieren und darauffolgende Verseifung änderte sich der Schmelzpunkt nicht wesentlich. Da die Mischprobe mit dem bei 217—218° scharf schmelzenden Glucosid, das nach dem Zemplénschen Verfahren gewonnen war, keine deutliche Depression zeigte, so ist es möglich, daß das unscharf bei 220—228° schmelzende Produkt ein Gemisch von α- und β-Form darstellt. Opt. Drehung: $[\alpha]_D^{20}$: —10°.

Das entsprechende Tetraacetyl-glucosid schmolz ebenfalls unscharf bei 185—190°.

Nach der Darstellung des Dehydroandrosteronglucosids sind Versuche zur Synthese eines Oestronglucosids noch im Gange. Da die OH-Gruppe des Oestrons phenolartigen Charakter besitzt, werden die Methoden zur Darstellung des Oestronglucosids gegenüber dem Dehydroandrosteron etwas modifiziert werden müssen. Im ganzen ist aber zu erwarten, daß bei der relativ großen Ähnlichkeit der Aglucone auch die Glucoside der beiden Hormone sich chemisch ähnlich verhalten, und die bisher gemachten Erfahrungen sich weiter verwerten lassen.


HCBr
HCOAc
AcOCH
HCOAc
HC
CH2OAc
O
+ OH
CH3
O
Hg (CH3COO)2
oder Ag2O
XI
Na OCH3
oder NH3 + CH3OH
XII
HCOH
HOCH
HCOH
CH2OH

Versuchsteil.

I.

1. Über Chlorierungsversuche an Dehydro-androsteron und Cholesterin.

a) Behandlung von Dehydro-androsteron mit Thionylchlorid (15).

62 mg trockenes Dehydro-androsteron wurden mit etwa 200 mg gefälltem, trockenem Calciumcarbonat und 4 ccm absolutem Äther versetzt, und hierauf 2 ccm frisch destilliertes Thionylchlorid vorsichtig zugegeben. Nach etwa 10 Stunden wurden der Äther und das Thionylchlorid im Vakuum bei Zimmertemperatur abgedampft, die in Äther löslichen Anteile getrocknet und nach einer von Westphal mitgeteilten Methode zur Entfernung von unverändertem Dehydro-androsteron folgendermaßen behandelt:

Sie wurden in einer Mischung von 2 ccm trockenem Chloroform und 1 ccm reinstem Pyridin gelöst; die Lösung wurde in Eis-Kochsalzmischung gekühlt, mit einer ebenfalls gekühlten Mischung von 0,5 ccm Chlorsulfonsäure und 2 ccm Chloroform versetzt und anschließend auf dem Wasserbad ½ Stunde erwärmt. Nach dem Abkühlen wurde mit 20 ccm Äther und 15 ccm 2—n Sodalösung geschüttelt, wobei das Natriumsalz der Sulfonsäure ausfiel. Es wurde mit Äther behandelt, und die Ätherlösung dann mit verd. Schwefelsäure und mit Wasser gewaschen. Der geringe Ätherrückstand zeigte eine positive Beilsteinprobe und schmolz zunächst unscharf bei 145—150°. Die Ausbeute erschien zu unbefriedigend, um den Versuch mit einem größeren Ansatz zu wiederholen, zumal bereits ähnliche Erfahrungen vorlagen.

b) Oxydation von Dibrom-Cholesterinchlorid mit Chromsäure.

Dibromcholesterinchlorid.

50 g Cholesterinchlorid vom Schmp. 96°, das nach einer der bekannten Methoden dargestellt worden war, wurden

in 50 ccm Chloroform gelöst und unter Umschwenken mit einer Lösung von 6,5 ccm Brom in 30 ccm Chloroform versetzt, wobei rasche Entfärbung eintrat. Das Dibromid wurde mit etwa 150 ccm Methanol gefällt und filtriert. Nach Umkristallisieren lag der Schmp. bei 129°. Reinausbeute 62 g.

Der Halogengehalt wurde auf folgende Weise bestimmt:

Nach einem von Dannenbaum (1) angewandten Verfahren wurden 28,0 mg Substanz mit 200 mg Kaliumbenzoat und 1 g Benzoesäure in einer Mikrobombe im Ölbad 2—3 Stunden auf etwa 180° erhitzt. Nach dem Erkalten wurde der Bombeninhalt gelöst, mit einem Überschuß von n/10 Silbernitrat versetzt und nach Volhard mit Ammoniumrhodanid-Lösung mit einer Mikrobürette zurücktitriert. Der Verbrauch an n/10 Silbernitrat betrug 1,52 ccm, was einem Halogengehalt von 3,09 Äquivalent/Mol. entspricht. Angenommenes Mol.-Gew. 564,6 ($C_{27}H_{45}ClBr_2$).

Chromsäureoxydation.

Nach dem von R. E. Marker (3) angegebenen Verfahren wurden zunächst 28,3 g (1/20 Mol) Dibromcholesterinchlorid in 1,32 l Eisessig gelöst, bzw. suspendiert, und unter starkem Rühren in einem Bad von 70° innerhalb von 5 Stunden eine Lösung von 51 g Chromtrioxyd in 60 ccm Wasser und 125 ccm Eisessig aus einem Tropftrichter zugegeben. Dann wurde mit 50 ccm Alkohol versetzt und in Eiswasser gestellt. Durch Filtrieren wurden fast 10 g Ausgangsmaterial zurückgewonnen. Das Filtrat wurde im Vakuum fast völlig zur Trockne eingedampft und dann mit etwa 250 ccm Wasser und 120 ccm Äther versetzt. Die Ätherlösung wurde mit Natriumbicarbonatlösung und Wasser gewaschen und dann zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde zur Entbromung mit 20 g Zinkstaub, 10 ccm Benzol und 80 ccm Eisessig ½ Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Dann wurde filtriert, wieder im Vakuum eingedampft, in Äther aufgenommen und zur Entfernung der entstandenen Säuren mit starker Natronlauge behandelt. Das ausgefallene Natriumsalz wurde mit Äther extrahiert, die Ätherlösungen eingedampft, und der Rückstand in wenig Alkohol aufgenommen.

Dann wurde mit überschüssiger Semicarbazid-acetatlösung gekocht, mit Wasser gefällt, und der Niederschlag mit Äther ausgewaschen. Da als Rückstand nur eine kleine Menge Semicarbazon vom Schmp. 250° (unscharf) gefunden wurde, wurde die Reaktion wiederholt, aber mit Modifikationen nach den von Butenandt, Dannenbaum, Hanisch und Kudszus (15) beim Abbau von Dibromcholesterinacetat mit Chromsäure gemachten Erfahrungen:

Vor Beginn der Oxydation wurde der Eisessiglösung von Dibromcholesterinchlorid eine Mischung von etwa 8 ccm konz. Schwefelsäure und 100 ccm Eisessig zugesetzt, und dann 12 Stunden nur auf 50° erhitzt. Vor dem Zerstören überschüssiger Chromsäure mit Alkohol wurde zur Neutralisation der Schwefelsäure mit einer Lösung von 20 g Kaliumacetat in 180 ccm Eisessig versetzt. Die Weiterbehandlung erfolgte wie oben angegeben. Nach dem Behandeln mit Semicarbazid-acetat wurden etwa 60 mg Semicarbazon vom Schmp. 250° erhalten, die drei Stunden mit 3 ccm Alkohol und 1,5 ccm 5-n Schwefelsäure zum Sieden erhitzt wurden. Das Semicarbazon setzte sich hierbei schwer um, und durch Ausfällung mit Wasser wurden auch hier nur einige 10 mg Chlorketon gewonnen.

Weitere Chromsäure-Oxydationen zur Erzielung einer besseren Ausbeute wurden nicht angesetzt, da inzwischen mit einem anderen Verfahren zur Darstellung von Dehydro-androsterylchlorid aus dem heute technisch zugänglichen Dehydro-androsteron mit Aussicht auf befriedigende Ausbeute begonnen worden war (siehe weiter unten).

c) Versuche zur Chlorierung von Dibromcholesterin.

1) 9,5 g Dibromcholesterin vom Schmp. 122° wurden nach der für die Darstellung von Dihydrocholesterylchlorid üblichen Art (2) mit 5 g Phosphorpentachlorid 10 Min. verrieben, das krümelige Reaktionsprodukt mit Wasser versetzt und auf dem Wasserbad erwärmt. Dann wurde in Äther aufgenommen und mit Natriumbicarbonatlösung und Wasser gewaschen. Zwischen Wasser- und Ätherschicht setzten sich phosphorhaltige Verunreinigungen ab, die durch Waschen mit Soda-

lösung entfernt wurden. (Auf Phosphorsäure war mit Ammoniummolybdat geprüft worden.) Nach Abdampfen des Äthers konnten einzig etwa 10 % Ausgangsmaterial zurückgewonnen werden, der Rest bestand aus einem unentwirrbaren, gelben Öl.

2) 9,5 g Dibromcholesterin wurden mit etwa 20 ccm absolutem Äther und 5 ccm Thionylchlorid über Nacht aufbewahrt. Nach dem Abdunsten der Lösungsmittel blieb eine leicht gelb gefärbte Masse zurück, die nach Umkristallisieren aus Aceton einen Schmp. von 124—127° besaß, der sich auch durch nochmaliges Umkristallisieren nicht änderte. Er lag also zwischen dem des Ausgangsproduktes (122°) und dem des bekannten Dibromcholesterinchlorids (129—130°). Durch Entbromen mit Zinkstaub und Eisessig oder auch mit Natriumjodid und Alkohol konnte zwar ein nach Umkristallisieren halogenfreies Cholesterin vom Schmp. 147—148° gewonnen werden, andererseits mußte aber auch Chlor in das Molekül eingetreten sein, welches qualitativ auf folgende Weise nachgewiesen wurde:

Chlorprobe bei Anwesenheit von Brom:

In einem kleinen Reagenzglas wurde eine Messerspitze Substanz mit einem erbsengroßen Stück Natrium über kleiner Flamme zum Glühen erhitzt, und dann noch kleine Stückchen sauberes Natrium nachgeworfen. Das Gläschen wurde durch Eintauchen in 10 ccm Wasser zerstört und feste Teile mit einem Glasstab zerdrückt. Dann wurde kurz aufgekocht und filtriert. Die Lösung wurde mit einigen Tropfen Eisessig angesäuert und mit einem Überschuß von chlorfreiem PbO_2 gelinde gekocht, bis alles Brom entfernt war. Dann wurde in Salpetersäure gelöst und mit wenigen Tropfen Silbernitratlösung versetzt. Es fiel etwas Chlorsilber aus, das sich durch seine schnelle Dunkelfärbung ausgezeichnet. Die Probe wurde mehrmals wiederholt.

Quantitativ wurde die Halogenbilanz wieder durch Aufschluß mit Kaliumbenzoat-Benzoesäure, wie für das Dibromcholesterinchlorid beschrieben, aufgestellt:

27,7 mg Substanz, Verbrauch an n/10 $AgNO_3$: 1,10 ccm

26,9 mg Substanz, Verbrauch an n/10 $AgNO_3$: 1,08 ccm.

Auf Dibromcholesterin $C_{27}H_{46}OBr_2$ (Molgw. 546,2) umgerechnet bedeutet dies einen Halogengehalt von 2,18 bzw. 2,22 Mol. Da

eine Titration nach Volhard meist etwas zu hohe Halogenwerte liefert, weist dieser Befund auf eine vorwiegende Intaktheit der Hydroxyl-Grupe hin; es könnte ein Teil des Broms durch Chlor ersetzt sein. Jedenfalls war auch hier die Hydroxyl-Gruppe bemerkenswert schwer durch Chlor zu ersetzen.

2. Über eine einfache Methode zum Ersatz der 3-ständigen Hydroxylgruppe im Dehydroandrosteron, Pregnenolon und Androstendiol durch Chlor.

Tosyl-dehydroandrosteron (II).

1,4 g Dehydro-androsteron wurden in 3 ccm wasserfreiem Pyridin gelöst, und die Lösung wurde mit der äquivalenten Menge (0,95 g) p-Toluolsulfochlorid versetzt. Die Reaktionslösung blieb 24 Stunden stehen, wurde dann in Wasser gegossen und ausgeäthert. Der Ätherrückstand wurde, ohne zu erwärmen, aus Aceton-Wasser und dann aus Benzol-Petroläther umkristallisiert. Ausbeute an reinem Ester 1,60 g (71 %). Aus der Aceton-Mutterlauge wurde nur eine kleine Menge unverändertes Dehydroandrosteron zurückgewonnen. Nach 2—3maligem Umkristallisieren schmolz der Ester konstant bei 157—158° unt. Zers.

77,4 mg in 2 ccm Diocan, [α]: — 0,46°. $[\alpha]_D^{20}$: — 12,1°.

4.839 mg Sbst.: 12,530 mg CO_2, 3,380 mg H_2O.

$C_{26}H_{34}O_4S$. Ber. C 70,53, H 7,74. Gef. C 70,62, H 7,81.

Dehydroandrosteron-methyläther (III)

0,46 g Tosyl-dehydroandrosteron wurden mit 50 ccm wasserfreiem Methanol 2—3 Stunden auf dem Wasserbade gekocht. Nach dem Einengen und Abkühlen der Lösung kristallisierte der Äther aus. Er wurde mehrmals aus verd. Methanol und aus wenig Petroläther umkristallisiert. Schmp. 140—142°. Die Mischprobe mit Dehydroandrosteron ergab eine Depression von 25°. 50 mg Äther, in 2 ccm Chloroform gelöst, zeigten keine erkennbare optische Aktivität.

5,027 mg Sbst.: 14,630 mg CO_2, 4,450 mg H_2O.

$C_{20}H_{30}O_2$ Ber. C 79,40, H. 10,00. Gef. C 79,37, H 9,91.

i-Dehydroandrosteron-methyläther (IV).

Eine Lösung von 2,1 g Kaliumacetat in 90 ccm wasserfreiem Methanol wurde mit 1,60 g Tosyl-dehydro-

androsteron versetzt und 2—3 Stunden auf dem Wasserbade gekocht; der Ester ging rasch in Lösung. Nach beendeter Reaktion wurde die Lösung eingeengt, mit Wasser versetzt und ausgeäthert. 1,08 g i-Methyläther blieben nach dem Abdampfen der ätherischen Lösung als farbloses Öl zurück. Ausbeute 99 %. In einem 2. Ansatz wurde der flüssige Äther bei 100—110° und 0,001 mm destilliert. Er kristallisierte aus alkoholischer Lösung bei der Kühlung mit Aceton-Kohlensäure aus, die Kristalle schmolzen aber schon weit unter 0°.

75,7 mg in 2 ccm Chloroform, [α]: + 4,20 (5)°. $[\alpha]_D^{23}$: + 111°.
5,133 mg Sbst.: 14,865 mg CO_2, 4,540 mg H_2O.
$C_{20}H_{30}O_2$. Ber. C 79,4, H 10,0. Gef. C 79,0, H 9,9.

Dehydroandrosterylchlorid (3-Chlor-Δ^5-ätiocholenon-(17)) (V).

1,08 g i-Dehydro-androsteron-methyläther wurden in 200 ccm Eisessig gelöst, und die Lösung mit etwa 10 ccm konz. Salzsäure versetzt. Am nächsten Tage wurde mit Wasser ausgefällt, und der Niederschlag aus verdünntem Aceton und wasserfreiem Methanol umgelöst. Das Reaktionsprodukt vom Schmp. 155—157° zeigte keine Schmelzpunktserniedrigung mit einem aus Harn dargestellten Präparat. Ausbeute 0,87 g (79 %). Ausbeute über alle drei Stufen 56 %.

42,0 mg in 2 ccm Chloroform, [α]: + 0,29°. $[\alpha]_D^{21}$: + 14°.
12,661 mg Sbst.: 5,690 mg AgCl.
$C_{19}H_{27}OCl$. Ber. Cl 11,56. Gef. Cl. 11,18.

Δ^5-Tosyl-pregnenol-(3)-on-(20) (VII b).

0,95 g völlig getrocknetes Pregnenolon vom Schmp. 186—187° wurden zusammen mit 1,3 g p-Toluolsulfochlorid (2,3 Mol.) in etwa 4 ccm reinstem, trockenem Pyridin gelöst. Nach kurzer Zeit begannen sich aus der Lösung lange Kristalle von Pyridin-Chlorhydrat auszuscheiden. Die Reaktionslösung wurde sich selbst überlassen, nach etwa 36 Stunden in Wasser gegossen und in einem Gemisch aus gleichen Teilen Benzol und Äther aufgenommen. Die mit verd. Schwefelsäure und Wasser gewaschene und über Natriumsulfat getrocknete Benzol-Äther-Lösung wurde bei 20° im Vak. eingedampft; der Rückstand

wurde in der Kälte aus Benzol-Petroläther, Aceton-Petroläther und zuletzt unter vorsichtigem Erwärmen aus Aceton-Wasser umkristallisiert. Der Schmelzpunkt lag bei 139—140°. Ausbeute an reinstem Ester 0,7 g.

137,1 mg Sbst. in 2 ccm Chloroform. [α]: + 0,62°. $[\alpha]_D^{20}$: + 9°.

4,911 mg Sbst.: 12,860 mg CO_2, 3,530 mg H_2O.

5,281 mg Sbst.: 2,640 mg $BaSO_4$.

$C_{28}H_{37}O_4S$. Ber. C 71,59, H 7,95, S 6,83.
Gef. C 71,42, H 8,04, S 6,86.

Pregnenolon-methyläther (VIIIb).

0,10 g Tosyl-pregnenolon wurden mit 15 ccm reinem Methanol 2 Stunden auf dem Wasserbade zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde mehrmals aus Methanol-Wasser umkristallisiert. Reinausbeute etwa 50 mg.

21,7 mg Sbst. in 2 ccm Chloroform. [α]: + 0,19°. $[\alpha]_D^{18}$: + 18°.

5,004 mg Sbst.: 14,640 mg CO_2, 4,620 mg H_2O.

$C_{22}H_{33}O_2$. Ber. C 80,08, H. 10,10. Gef. C 79,81, H. 10,32.

i-Pregnenolon-methyläther (IXb).

Eine Lösung von 1,2 g Kaliumacetat in 50 ccm Methanol wurde mit 0,5 g Tosyl-pregnenolon versetzt und 2 Stunden auf dem Wasserbade erhitzt. Nach dem Einengen der Lösung wurde mit Wasser versetzt und ausgeäthert. Durch mehrmaliges Umkristallisieren der in Äther löslichen Anteile wurden 0,25 g i-Pregnenolon-methyläther gewonnen, der bei 124—125° schmolz und mit dem normalen Methyläther eine Schmelzpunktsdepression von 30° zeigte.

63,6 mg Sbst. in 2 ccm Chloroform, [α]: + 4,20°. $[\alpha]_D^{20}$: + 132°.

4,855 mg Sbst.: 14,200 mg CO_2, 4,370 mg H_2O.

$C_{22}H_{33}O_2$. Ber. C 80,08, H 10,10. Gef. C 79,77, H 10,07.

3-Chlor-Δ^5-pregnen-on-(20) (Xb).

0,22 g i-Pregnenolon-methyläther wurden in 50 ccm Eisessig gelöst, mit 2,5 ccm konz. Salzsäure versetzt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Dann wurde die

Lösung in Wasser gegossen, ausgeäthert und durch Schütteln mit Bicarbonat von Essigsäure befreit. Der Äther-Rückstand wurde aus Aceton-Wasser und Methanol-Wasser umgelöst. Es wurden 0,17 g reines 3-Chlor-Δ^5-pregnen-on-(20) vom Schmp. 146,5° erhalten.

14,3 mg Sbst. in 2 ccm Chloroform, [α]: + 0,22°. $[\alpha]_D^{22}$: + 31,5°.

8,018 mg Sbst.: 3,410 mg AgCl.

$C_{21}H_{30}OCl$. Ber. Cl 10,62. Gef. Cl 10,52.

Oxim: 53 mg 3-Chlor-Δ^5-pregnen-on-(20) wurden mit überschüssiger alkohol. Hydroxylamin-acetat-Lösung 1½ Stunden auf dem Wasserbade zum Sieden erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde mit Wasser gefällt und mehrmals aus Alkohol-Wasser und aus Aceton-Wasser umgelöst. Schmp. 181°.

3,700 mg Sbst.: 0,127 ccm N bei 22°, 742 mm.

$C_{21}H_{31}ONCl$. Ber. N 4,01. Gef. N 3,89.

Androstendiol-(3,17)-tosyl-di-ester (VIIc).

2,0 g trockenes Androstendiol vom Schmp. 176 bis 178° wurden zusammen mit 3,4 g (1,3 Mol.) p-Toluolsulfochlorid in etwa 4 ccm wasserfreiem Pyridin gelöst; der Eintritt einer Reaktion machte sich durch deutliche Erwärmung bemerkbar. Die Weiterverarbeitung erfolgte wie beim Pregnenolonester beschrieben. Die Ausbeute betrug 2,2 g an reinem Androstendiol-tosyl-diester. Schmp. 140—141°.

59,0 mg Sbst. in 2 ccm Chloroform, [α]: — 1,74°. $[\alpha]_D^{20}$: — 59°.

5,152 mg Sbst.: 12,485 mg CO_2, 3,200 mg H_2O.

10,027 mg Sbst.: 7,900 mg $BaSO_4$.

$C_{33}H_{42}O_6S_2$. Ber. C 66,17, H 7,07, S 10,71.
Gef. C 66,09, H 6,95, S 10,8.

i-Androstendiol-methyläther-tosylester-(17) (IXc).

Eine Lösung von 2,4 g Kaliumacetat in 100 ccm Methanol wurde mit 2 g Androstendiol-tosyldiester versetzt und 2 Stunden zum Sieden erhitzt. Bei der Aufarbeitung wurden 1,28 g reiner i-Androstendiol-methyläther-tosylester-(17) gewonnen, der bei 124° schmolz.

70,8 mg Sbst. in 2 ccm Chloroform, [α] + 0,83°. $[\alpha]_D^{20}$: + 23,5°.

4,977 mg Sbst.: 12,900 mg CO_2, 3,690 mg H_2O.

$C_{27}H_{38}O_4S$. Ber. C 70,69. H 8,35. Gef. C 70,69. H 8,30.

3-Chlor-Δ^5-androstendiol-tosylester- (17).

1,0 g i-Androstendiol-methyläther-tosylester- (17) wurde in 200 ccm Eisessig gelöst und die Lösung mit 10 ccm konz. Salzsäure versetzt. Das nach der für 3-Chlor-Δ^5-pregnenon- (17) beschriebenen Aufarbeitung isolierte Reaktionsprodukt schmolz bei 150°. Ausbeute 0,85 g.

29,7 mg Sbst. in 2 ccm Chloroform, [α]: — 0,89°. $[\alpha]_D^{20}$: — 60°.

5,040 mg Sbst.: 12,465 mg CO_2, 3,480 mg H_2O.

9,279 mg Sbst.: 2,860 mg AgCl.

9,337 mg Sbst.: 4,720 mg $BaSO_4$.

$C_{26}H_{35}O_2SCl$. Ber. C 67,42, H 7,62, S 6,93, Cl 7,66.
Gef. C 67,53, H 7,73, S 6,94, Cl 7,62.

Der Tosylester erwies sich als beständig gegen Hydrolysenversuche durch dreistündiges Kochen mit 2-n methylalkoholischer Kalilauge oder mit 3-proz. methylalkoholischer Salzsäure.

Ein Versuch, die p-Toluolsulfonsäure durch mehrstündiges Kochen mit Pyridin abzuspalten, blieb erfolglos. Erst beim Erhitzen auf 120° im Vak. von ungefähr ½ mm trat Abspaltung ein, die sich durch starke Halochromie bemerkbar machte. Das Sublimat wurde in Chloroform gelöst und die Toluolsulfonsäure ausgewaschen. Es wurde ein gelbliches nicht einheitliches Pulver vom Schmp. 180—200° erhalten, das auch durch Umkristallisieren aus Chloroform-Alkohol sich nicht völlig reinigen ließ.

II.

Sexualhormon-Glucoside.

Die Acetobromglucose wurde dargestellt nach der von Freudenberg (27) angegebenen Vereinfachung des von E. Fischer angewandten Verfahrens. Die Acetohalogenose wurde vor dem Aufbewahren noch in der eben nötigen Menge trocknem Chloroform gelöst und mit Petroläther langsam wieder gefällt. Sie wurde so in Nadeln vom Schmp. 89° erhalten und hielt sich über Phosphorpentoxyd viele Wochen, ohne ihren Schmelzpunkt

zu verändern. Ein anderes, an Reinheit nicht so weit getriebenes, Präparat erschien die Ausbeute ungünstig zu beeinflussen.

Cholesterin-glucosid.

Zunächst wurde am Cholesterin als Modellsubstanz nach der von Lettré und Hagedorn mitgeteilten Methode (28) die Glucosidbildung bei Sterinen studiert. Zur Charakterisierung des aus 2 g Cholesterin gewonnenen Glucosids diente wie dort das Tetra-acetat, das durch nochmaliges Acetylieren des freien Glucosids in langen Nadeln gewonnen wurde.

Schmp. des Tetra-acetats:	159°.
Schmp. nach Lettré-Hagedorn:	159—160°.
Opt. Drehung:	[α]: — 25,8°.
Opt. Drehung nach Lettré-Hagedorn:	[α]: — 23,8°.

Dehydroandrosteron-glucosid.

1. Im ersten Versuch wurde genau analog der Darstellung von Cholesterin-glucosid verfahren. 1,5 g Dehydroandrosteron, 2 g Acetobromglucose, und 2 g alkalifreies, trocknes Silberoxyd wurden in 100 ccm absolutem Äther zusammen mit 1,5 g Calciumhydrid zur Bindung des bei der Reaktion frei werdenden Wassers 8 Stunden auf dem Wasserbad unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Dann wurde durch eine Extraktionshülse filtriert, und der Silberoxydschlamm mit Äther extrahiert. Die Ätherlösungen wurden eingedampft und der Rückstand in absolutem Alkohol gelöst. Zu der auf 0° abgekühlten Lösung wurden unter Rühren 50 ccm 10-proz. alkohol. Kalilauge von derselben Temperatur zugegeben und die Mischung 90 Minuten stehengelassen. Nach dieser Verseifung fiel nur eine kleine Menge einer dunkel gefärbten Verunreinigung aus, die abfiltriert wurde. Glucosid war auch beim Einengen der alkohol. Lösung im Vak. nicht zu fassen. Ein Versetzen der eingeengten Lösung mit Wasser führte nur zur Isolierung einer kleinen Menge unverändertem Dehydroandrosteron.

2. Quecksilberacetatverfahren nach Zemplén (29, 30).

1,68 g Dehydroandrosteron, 2 g Acetobromglucose und 0,83 g Quecksilberacetat wurden mit 30

ccm abs. Benzol 4 Stunden auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt. Dann wurde die Lösung wiederholt mit Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet, und das Benzol im Vak. eingedampft. Zur vollständigen Entfernung des Benzols wurde in Methanol aufgenommen und wieder eingedampft, wobei der Rückstand kristallisierte. Zur Abspaltung der Acetylgruppen wurde die Natriummethylat-Methode nach E. Fischer bzw. Zemplén gewählt. Das Reaktionsprodukt wurde in wasserfreiem Methanol aufgenommen und mit wenigen ccm 3,5-proz. Natriummethylat-Lösung versetzt. Nach 10—15 Minuten wurde die braune Lösung unter Verwendung des stark färbenden Merckschen Universal-Indicators, mit 5-proz. methylalkohol. Salzsäure genau neutralisiert und dann noch mit 2 Tropfen methylalkohol. Ammoniak versetzt. Dann wurde im Vak. bei weniger als 20° völlig zur Trockne eingedampft.

Zur Entfernung von Ausgangsmaterial wurde der gepulverte Rückstand mehrmals mit Äther ausgeschüttelt und dekantiert, dann wurde zum Herauslösen anorg. Beimengungen mit Wasser ausgeschüttelt.

Zur weiteren Reinigung wurde nochmals acetyliert: Die getrocknete Substanz wurde mit der gleichen Menge Natriumacetat und 25 ccm Essigsäure-anhydrid eine Stunde zum leichten Sieden erhitzt, dann wurde in die 10fache Menge Wasser gegossen und der Niederschlag zur Entfernung der Essigsäure mehrmals mit Wasser ausgewaschen. Nach dem Trocknen wurde das Tetra-acetat aus Alkohol-Wasser und aus Chloroform-Petroläther umkristallisiert. Der Schmp. blieb bei 179—181° konstant. Die Ausbeute betrug beim ersten Ansatz 0,52 g analysenreines Tetra-acetylglucosid (XI).

4,518 mg Sbst.: 10,610 mg CO_2, 3,020 mg H_2O.
$C_{33}H_{46}O_{11}$: Ber. C 64,04%, H 7,49%. Gef. 64,06%, H 7,48%.

Die Verseifung zum freien Glucosid erfolgte wieder genau, wie oben angegeben. Nachdem das Verseifungsprodukt wieder mit Wasser und Äther behandelt worden war, wurde es mehrmals aus wenig Methanol-Wasser und aus Pyridin-Wasser umkristallisiert. Es wurde so in kleinen, verfilzten Nadeln erhal-

ten. Der Schmelzpunkt lag bei 217—218°. Es wurden etwa 0.15 g analysenreines Glucosid (XII) gewonnen.

Nach dem so ausgearbeiteten Verfahren wurden die besten Ausbeuten erzielt. In einem zweiten Ansatz wurden aus 2 g Dehydroandrosteron 2,1 g Tetra-acetylglucosid vom Schmp. 178 bis 179° gewonnen, was einer Ausbeute von 48% entspricht. Hieraus wurden nach der Verseifung 530 mg reinstes Dehydroandrosteron-glucosid erhalten.

Das Dehydroandrosteron-glucosid löst sich sehr schwer in kaltem Wasser, in 50proz. Alkohol ist es dagegen bei leichtem Erwärmen löslich.

Die Probe mit Fehlingscher Lösung war erwartungsgemäß negativ, auch nach Zusatz von etwas Alkohol zur völligen Lösung des Glucosids.

4,438 mg Sbst.: 10,785 mg CO_2, 3,410 mg H_2O.

$C_{25}H_{38}O_7$: Ber. C 66,62%, H 8,51%.

Gef. C 66,30%, H 8,60%.

Opt. Drehung: 15,8 mg Sbst. in 2 ccm Alkohol: α: — 0,12°, $[\alpha]_D^{20}$ — 15,2°.

17,9 mg Sbst. in 2 ccm Alkohol: α: — 0,14°, $[\alpha]_D^{20}$ — 15,6°.

Verseifung des Tetra-acetats mit methylalkoholischem Ammoniak:

Absoluter Methylalkohol wurde bei 0° mit trockenem Ammoniakgas gesättigt und im Eisschrank aufbewahrt. Er wurde zur Acetylgruppen-abspaltung unter noch milderen Bedingungen nach einer von E. Fischer angewandten Methode verwendet (31). Das acetylierte Glucosid wurde in der nötigen Menge Verseifungsreagens aufgelöst und über Nacht im Eisschrank aufbewahrt. Dann wurde das Lösungsmittel bei niedriger Temperatur im Vak. eingedampft, und das freie Glucosid nach einmaligem Umkristallisieren rein erhalten.

3. Silberoxyd-Methode nach Fischer (28).

Nach dem zuerst mißglückten Versuch mit der Fischerschen Methode (siehe unter 1) gelang nunmehr auch dieses Verfahren. Die Lösung von 1,26 g Dehydroandrosteron und 1,68 g Acetobromglucose in 85 ccm Äther wurde zu-

sammen mit 1,75 g Silberoxyd 8 Stunden in starkem Sieden gehalten. Dann wurde filtriert, der Silberoxydschlamm extrahiert, und die Ätherlösungen eingedampft. Die Weiterverarbeitung erfolgte genau wie unter 2.) beschrieben. 0,5 g Tetra-acetylglucosid wurden gewonnen; das hieraus erhaltene Dehydroandrosteronglucosid schmolz bei 220—228°. (Statt bei 217—218° nach dem Quecksilberacetat-Verfahren.) Die Mischprobe zeigte keine deutliche Depression. Auch das Tetra-acetat hatte mit 185—190° einen höheren Schmelzpunkt, als das früher gewonnene.

Opt. Drehung: 16,0 mg Sbst. in 2 ccm Alkohol α: — 0,08°, $[\alpha]_D^{20}$: — 10°.

Der scharfe Schmelzpunkt bei dem nach dem Quecksilberacetatverfahren hergestellten Glucosid deutet darauf hin, daß es sich bei ihm um eine reine Form handelt, während das unscharf und höher schmelzende Produkt aus dem Silberoxydansatz vielleicht ein Gemisch von α- und β-Form ist, das sich durch Umkristallisieren aber nicht leicht trennen läßt.

Literaturverzeichnis.

1. Butenandt u. Dannenbaum, Ztschr. physiol. Chem. 229, 192 (1934).
2. Ruzicka, Wirz u. Meyer, Helv. 18, 998 (1935).
3. R. E. Marker u. Mitarb., J. Am. chem. Soc. 58, 338 (1936).
4. R. E. Marker, Whitmore u. Kamm, J. Am. chem. Soc. 57, 2358 (1935).
5. Goebel u. Marvel, J. Am. chem. Soc. 55, 1693 (1933).
6. C. W. Porter, J. Am. chem. Soc. 57, 1436 (1935).
7. R. E. Marker, Oakwood u. Cooks, J. Am. chem. Soc. 58, 481 (1936).
8. Cohen u. Marrian, Bioch. Journ. 30, 57 (1936).
9. Cohen, Marrian u. Odell, Bioch. Journ. 30, 2250 (1936).
10. W. Schoeller u. Mitarb., D. R. P. Anmeld. Sch. 105 269 IVc/1204 und 105 272 IVc/1204 der Schering-Kahlbaum AG., 29. 9. 1934.
    Schoeller, Serini u. Gehrke, Naturw. 23, 337 (1935).
11. Butenandt, Dtsch. med. Wschr. 1935, 781.
12. Ruzicka u. Goldberg, Helv. 19, 1407 (1936).
13. R. E. Marker, Kamm u. Oakwood, J. Am. chem. Soc. 58, 1948 (1936).
14. Beynon, Heilbron u. Spring, Journ. chem. Soc. London, 1936, 907.
15. Butenandt, Dannenbaum, Hanisch u. Kudszus, Ztschr. physiol. Chem. 237, 57 (1935).
16. W. Stoll, Ztschr. physiol. Chem. 207, 147 (1932).
17. Ferns u. Lapworth, Journ. chem. Soc. London, 101, 273 (1912).
18. Wagner-Jauregg u. L. Werner, Ztschr. physiol. Chem. 213, 119 (1932).
19. Beynon, Heilbron u. Spring, Journ. chem. Soc. London, 1937, 406.
20. W. Stoll, Ztschr. physiol. Chem. 246, 13 (1937).
21. Ruzicka, Goldberg u. Boßhard, Helv. 20, 541 (1937).
22. E. S. Wallis, Fernholz u. Gebhart, J. Am. chem. Soc. 59, 137 (1937).
23. F. G. Ford u. Wallis, J. Am. chem. Soc. 59, 1415 (1937).

24. Beynon, Heilbron u. Spring, Journ. chem. Soc. London, 1937, 1459.
25. Butenandt, Westphal u. Cobler, B. 67, 1611 (1934).
26. Butenandt u. Hanisch, B. 68, 1859 (1935); Ztschr. physiol. Chem. 237, 89 (1935).
27. K. Freudenberg u. Mitarb., B. 60, 241 (1927).
28. Lettré u. Hagedorn, Ztschr. physiol. Chem. 242, 212.
29. Dane u. Brady, Ztschr. physiol. Chem. 244, 241.
30. Géza Zemplén, B. 62—67 (1929—1934).
31. E. Fischer u. M. Bergmann, B. 49, 1047 (1916).
32. E. G. Ford, Chakravorty u. Wallis, J. Am. chem. Soc. 60, 413 (1938).

Lebenslauf.

Am 2. April 1912 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Karl Grosse und dessen Ehefrau Clara geb. Leo in Ludwigshafen am Rhein geboren. Von Ostern 1918 ab besuchte ich die Volksschule in Mannheim und ab 1922 das Karl-Friedrich-Gymnasium daselbst, wo ich Ostern 1931 die Reifeprüfung ablegte.

Ich wandte mich dem Studium der Chemie zu und war von Ostern 1931—1934 an der Universität Heidelberg immatrikuliert, wo ich im Februar 1934 das erste chemische Verbandsexamen ablegte. Dann setzte ich mein Studium an den Universitäten Berlin und Göttingen und an der Technischen Hochschule Danzig fort. Im April 1936 bestand ich in Göttingen das zweite chemische Verbandsexamen. Von diesem Zeitpunkt an war ich zuerst an der Technischen Hochschule Danzig und dann am Kaiser-Wilhelm-Institut für Biochemie in Berlin-Dahlem mit der Anfertigung meiner Doktorarbeit beschäftigt.

Meine akademischen Lehrer waren:

In Heidelberg:

Becker, Bothe, Freudenberg, Hieber, Jost, Lenard, Liebmann, Müller, O. Schmidt, Trautz, Wilke, Ziegler.

In Berlin:

Bodendorf, Günther, Kröhnke, Leuchs, Ohle, Schlenk, Straus.

In Göttingen:

Eucken, Micheel, Windaus.

In Danzig:

Butenandt, Glimm, Jellinek, Klemm, Neesen, Wangerin.